

UJI AKTIVITAS VITAMIN A TERHADAP EFEK TERATOGEN WARFARIN PADA FETUS MENCIT PUTIH

Netti Marusin^{1*}, Almahdy A² dan Herlina Fitri²

1. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas, Padang
2. Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Padang.

*Email : nettimarusin@fmipa.unand.ac.id

ABSTRAK

Telah dilakukan uji pengaruh pemberian vitamin A dalam menekan efek teratogen dari warfarin pada mencit putih. Mencit yang telah hamil diberikan vitamin A tiap dua hari secara oral dengan dosis 7,8 UI/20 g BB sebelum masa organogenesis mulai hari ke-0 sampai hari ke-5 kehamilan dan selama masa organogenesis pada hari ke-7 sampai hari ke-15 kehamilan. Pada hari ke delapan belas kehamilan dilakukan laparaktomi, kemudian dua pertiga jumlah fetus direndam dalam larutan merah alizarin dan sisanya dalam larutan bouin's. Hasil penelitian menunjukkan bahwa vitamin A dapat menekan efek teratogen yang disebabkan oleh warfarin pada fetus mencit. Pemberian vitamin A pada masa organogenesis menghasilkan fetus lebih banyak daripada sebelum masa organogenesis. Secara mikroskopik, pemberian vitamin A juga dapat mengurangi efek kerusakan hati fetus yang disebabkan oleh warfarin.

Kata kunci : vitamin A, warfarin, fetus, mencit putih

Makalah dipresentasikan pada Seminar Nasional Biologi Departemen Biologi FMIPA Universitas Sumatera Utara, Medan, Sumatera Utara 22 Januari 2011.

Prosiding Seminar Nasional Biologi Departemen Biologi FMIPA Universitas Sumatera Utara (editor : Salomo Hutahean, Syafrudin Ilyas, Suci Rahayu dan Kaniwa Berliani). USU press. Medan. P : 617-629)

I. PENDAHULUAN

Pemakaian obat pada wanita hamil dapat menimbulkan masalah bukan hanya akibat reaksi obat yang tidak diharapkan pada ibu, tetapi juga pada fetus. Sekitar 50% ibu hamil dan menyusui menggunakan obat-obatan atau suplemen yang sering dikonsumsi pada trimester pertama kehamilan. Zat aktif obat dapat masuk ke peredaran darah janin dan mempengaruhi proses pembentukan organ pada fetus yang akhirnya berefek teratogen. Salah satu obat yang bersifat teratogen adalah warfarin (Baillie *et al.*, 1980).

Warfarin adalah obat antikoagulan oral yang digunakan untuk penyakit dengan kecendrungan timbulnya tromboemboli, antara lain infark miokard, thrombosis vena, dan emboli paru (Ganiswara, 1995; Scheinin *et al.*, 2003). Obat ini menghambat sintesa vitamin K yang merupakan kofaktor dalam aktivasi faktor pembekuan darah II, VII, IX, dan X (Murray *et al.*, 1997; Wells *et al.*, 2006).

Warfarin merupakan senyawa yang bersifat teratogen. Obat ini mempunyai berat molekul yang kecil yaitu 308,33 g/mol (Farmakope Indonesia, 1995) sehingga dapat melintasi plasenta dan efek kerjanya sebagai antagonis vitamin K dapat mempengaruhi perkembangan

embrio dan fetus. Warfarin yang dikonsumsi pada trimester pertama kehamilan dapat menyebabkan terjadinya kelainan pada janin yang dikenal dengan istilah *Fetal Warfarin Syndrom* (FWS).

Cacat lahir yang terjadi berupa *nasal hypoplasia* (kelainan pada skeletal hidung), *short neck* (leher pendek), *brachydactyly* (jari pendek) dan *neonatal bleeding* (Baillie *et al.*, 1980; Mason *et al.*, 1992; Sathienkijkanchai and Wasant, 2005). Kelainan yang ditimbulkan oleh warfarin ini disebabkan oleh stress oksidatif.

Stress oksidatif adalah keadaan dimana tingkat oksigen reaktif intermediate (ROI) yang toksik melebihi pertahanan antioksidan endogen (Allen and Tressini, 2000). Di dalam tubuh ROS cenderung bereaksi dengan jaringan sehingga menimbulkan reaksi berantai yang menyebabkan kerusakan jaringan (Afonso *et al.*, 2007; Agarwal *et al.*, 2005). Stress oksidatif dapat dicegah dan dikurangi dengan asupan antioksidan yang cukup dan optimal ke dalam tubuh.

Antioksidan mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan yang disebabkan spesies oksigen reaktif dan mampu menghambat peroksidase lipid pada makanan (Sunarni, 2005). Vitamin A selain berfungsi untuk penglihatan juga berperan sebagai antioksidan yang mampu menangkap senyawa radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai dari ROS di dalam tubuh (BPOM RI, 2005). Vitamin A juga diperlukan untuk sintesa protein, diferensiasi sel, pertumbuhan dan perkembangan embrio (Drake, 2007).

Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan penelitian uji efek vitamin A terhadap fetus mencit putih betina yang telah diinduksi dengan warfarin sehingga kita dapat memantau apakah ada pengaruh vitamin A dalam menekan efek teratogenik yang ditimbulkan dari penggunaan warfarin. Diharapkan pada penelitian ini, vitamin A dapat berperan dalam mengurangi efek teratogen tersebut.

II. CARA KERJA

2.1. Alat dan Bahan

2.1.1 Alat

Kaca objek dan cover glass, alat-alat bedah, mikroskop digital, jarum oral, timbangan analitik, timbangan hewan, kandang mencit, lumpang, stamper, gelas ukur, spatel, pipet tetes, pinset, wadah perendaman fetus, tisu, batang pengaduk, vial, mikrotom putar, inkubator, wadah pewarnaan, dan kamera.

2.2.2 Bahan

Sodium warfarin (Simarc-2[®]), vitamin A, larutan Bouin's (formaldehid 14 %, asam pikrat jenuh, asam asetat glasial), larutan alizarin merah (KOH 1 % dan alizarin merah 6 mg/L), aquadest, air panas, Na CMC 0.5%, NaCl fisiologis, zat warna hematoxylin-eosin, xylol, paraffin, mayer's albumin (putih telur + gliserin), entelan, alkohol absolute, alkohol 50, 60, 70, 80, 90 dan 96%.

2.2.3 Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit putih betina, dengan umur lebih kurang dua bulan dengan berat badan berkisar antara 25-30 gram, sehat, memiliki daur estrus yang teratur

yaitu 4-5 hari. Beberapa ekor mencit jantan berumur lebih kurang tiga bulan, sehat dan berat lebih kurang 30 gram (Almahdy, 2007).

2.2. Cara Kerja

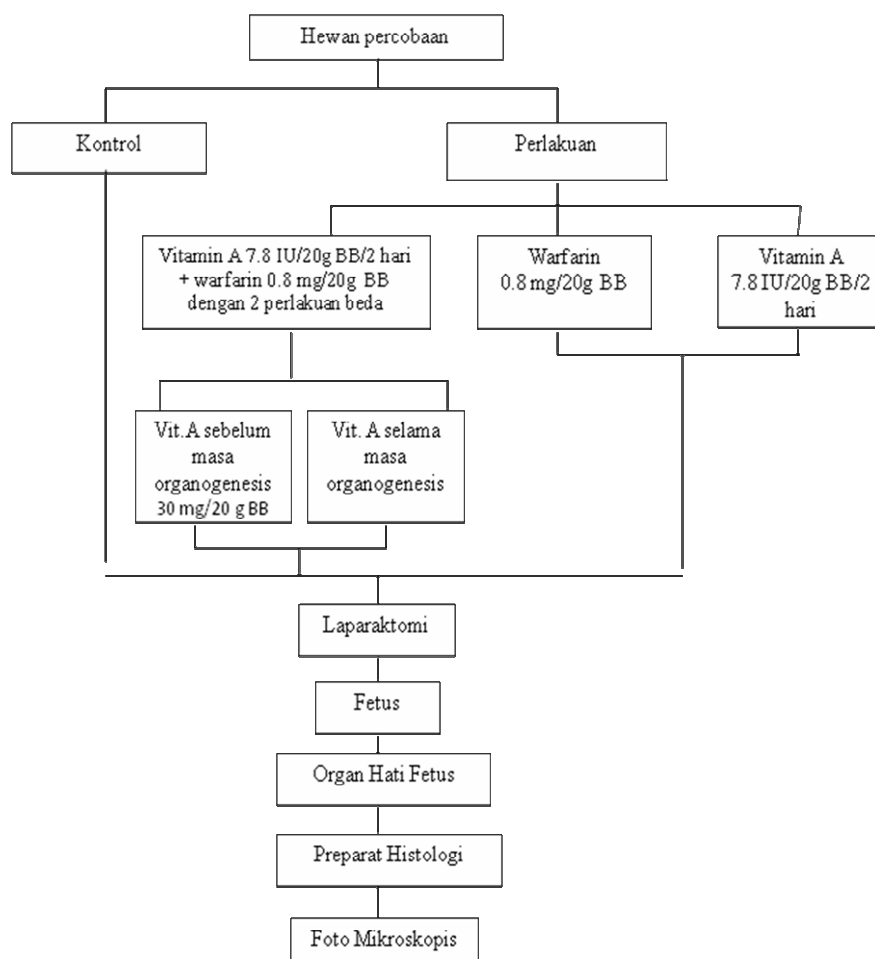
2.2.1 Penentuan Dosis

Dosis vitamin A yang digunakan adalah 3000 UI dosis manusia yang dikonversikan pada mencit menjadi 7,8 UI/20g BB dan dosis warfarin adalah 0,8 mg/20g BB mencit berdasarkan LD₅₀ dari warfarin yaitu 60 mg/kg BB mencit.

2.2.2 Pengawinan Hewan Percobaan

Pada masa estrus hewan dikawinkan dengan perbandingan jantan dan betina 1: 4. Mencit jantan dimasukkan ke kandang mencit betina pada pukul empat sore dan dipisahkan lagi besok paginya. Pada pagi harinya dilakukan pemeriksaan sumbat vagina. Sumbat vagina menandakan mencit telah mengalami kopulasi dan berada hari kehamilan ke nol. Mencit yang telah hamil dipisahkan dan yang belum kawin dicampur kembali dengan mencit jantan (Almahdy, 2004).

Urutan kegiatan penelitian ini adalah sebagai berikut :



Gambar 1. Urutan kerja pelaksanaan penelitian dimana laparaktomi hari ke-18 kehamilan

2.2.3 Analisa Data

Dari pengamatan yang dilakukan akan diambil data sebagai berikut : jumlah fetus (jumlah fetus yang hidup dan yang mati), berat badan fetus, jenis cacat dan jumlah fetus yang mengalami cacat (pada larutan Bouin's dan merah alizarin), pengamatan terhadap histopatologi fetus mencit. Data-data hasil penelitian diolah secara statistik menggunakan analisa varian satu arah dan program statistik 8.0.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Hasil

1. Pemberian vitamin A selama kehamilan mempengaruhi jumlah fetus secara bermakna ($P < 0,01$). Jumlah fetus pada pemberian warfarin dosis 0,8 mg/20g BB, vitamin A dosis 7,8 UI/20 g BB, Kombinasi warfarin dosis 0,8 mg/20g BB dengan vitamin A dosis 7,8 UI/20 g BB yang diberikan selama dan sebelum masa organogenesis berturut-turut adalah 10; 44; 36; dan 20, sedangkan pada kontrol negatif adalah 44 (Tabel 1).
2. Rata-rata berat badan fetus pada kelompok yang diberikan kombinasi warfarin dosis 0,8 mg/20g BB dengan vitamin A dosis 7,8 UI/20 g BB selama dan sebelum masa organogenesis adalah sama, yaitu; 1,21g, sedangkan pada kelompok pemberian warfarin dosis 0,8 mg/20g BB, vitamin A dosis 7,8 UI/20 g BB dan kelompok kontrol berturut-turut adalah 0,94g; 1,13g, dan 1,15g. Dari analisa statistik diketahui bahwa terlihat perbedaan bermakna pada rata-rata berat badan fetus antara kelompok kontrol dengan kelompok pemberian warfarin saja ($p < 0,05$) (Tabel 2).
3. Hasil pengamatan secara makroskopis saat laparaktomi tidak memperlihatkan adanya kelainan pada kaki, jari-jari, tulang rangka, ekor, telinga dan langit-langit pada semua kelompok perlakuan. Akan tetapi, pada kelompok yang diberikan warfarin dosis 0,8 mg/20g BB ditemukan 2 fetus yang mati, 1 fetus lambat pertumbuhan dan 1 fetus yang mengalami pendarahan pada bagian kepalanya. Pada kelompok kombinasi warfarin dan vitamin A yang diberikan selama masa organogenesis juga ditemukan 1 fetus yang mengalami pendarahan pada tempat yang sama (Lampiran 1 dan 2).
4. Pada kelompok pemberian warfarin saja dan kelompok kombinasi warfarin dengan vitamin A yang diberikan sebelum masa organogenesis ditemukan mencit yang mengalami abortus 1 ekor pada hari ke-9 kehamilan (Lampiran 1 dan 2).
5. Pada kelompok pemberian warfarin dosis 0,8 mg/20g BB, kombinasi warfarin dosis 0,8 mg/20g BB dengan vitamin A dosis 7,8 UI/20 g BB selama dan sebelum masa organogenesis ditemukan jumlah tapak resorpsi berturut-turut sebanyak 23, 4, dan 14, sedangkan pada kelompok kontrol dan kelompok pemberian vitamin A saja ditemukan 1 dan 3 tapak resorpsi (Lampiran 1 dan 2).
6. Pengamatan histopatologi terhadap organ hati fetus
 - a. Pengamatan terhadap vena sentralis
Vena sentralis pada hati fetus dari kelompok kontrol melingkar secara utuh dengan sel-sel endotelium yang tersusun rapat. Pemberian warfarin menyebabkan

terjadinya lisis pada beberapa sel endotelium. Kombinasi warfarin dan vitamin A yang diberikan sebelum dan selama masa organogenesis dapat membantu mengurangi lisis pada vena sentralis hati fetus yang disebabkan oleh warfarin (Gambar 2A-E.).

- b. Pengamatan terhadap hepatosit
Hepatosit pada hati fetus kontrol dan kelompok perlakuan terlihat mengelilingi vena sentralis akan tetapi susunannya tidak teratur dan batas antara satu sel dengan yang sel lain tidak terlihat jelas (Gambar 2A-E.).
- c. Pengamatan terhadap nukleus
Nukleus pada hati fetus mencit kontrol dan kelompok perlakuan terlihat bulat. Pada kelompok pemberian warfarin beberapa nukleus mulai hilang, sehingga menyebabkan terjadinya sirosis (Gambar 2A-E.).
- d. Pengamatan terhadap sinusoid
Sinusoid pada hati fetus kontrol dan kelompok perlakuan tidak terlihat jelas (Gambar 2A-E.).

Tabel 1. Jumlah fetus dan tapak resorpsi pada masing-masing kelompok perlakuan

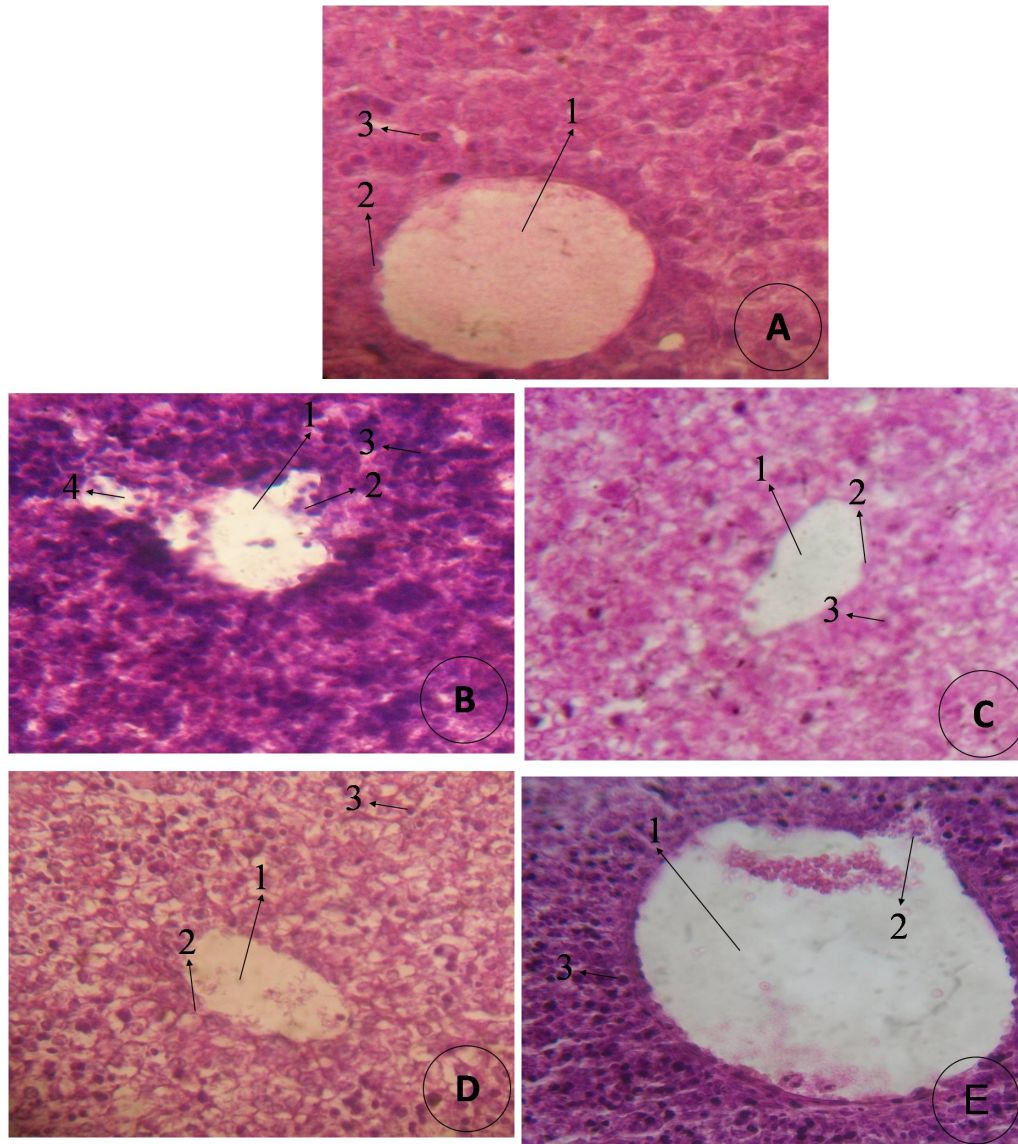
No. Mencit	Jumlah									
	P1		P2		P3		P4		P5	
	Fetus	TR	Fetus	TR	Fetus	TR	Fetus	TR	Fetus	TR
1	8	-	6	-	10	-	8	-	5	5
2	9	-	4	4	8	2	7	1	7	3
3	8	-	-	9	8	-	5	3	*	-
4	10	1	-	10	9	1	8	-	2	6
5	9	-	*	-	9	-	8	-	6	-
Σ X	44	1	10	23	44	3	36	4	20	14

*Induk mati pada hari ke-9 kehamilan

Tabel 2. Rata-rata berat badan fetus mencit setelah dilaparaktomi pada hari ke-18 kehamilan

Nomor Mencit	Rata-rata berat badan fetus (g)				
	P1	P2	P3	P4	P5
1	1,12	0,91	0,85	1,06	0,98
2	1,28	0,96	1,15	1,36	1,09
3	1,19	-	1,25	1,26	*
4	1,09	-	1,14	1,31	1,48
5	1,07	*	1,24	1,06	1,28
ΣX	5,75±0,09	1,87±0,03	5,64±0,16	6,03±0,14	4,84±0,22
\bar{X}	1,15	0,94	1,13	1,21	1,21

*Induk mati pada hari ke-9 kehamilan



Gambar 2. Foto mikroskopis jaringan hati fetus dari induk setelah perlakuan dengan warfarin dan vitamin A dimana; A). Induk kontrol, B). Induk perlakuan Warfarin Dosis 0,8mg/20 g BB, C). Induk perlakuan Vitamin A 7,8 UI/20 g BB, D). Induk perlakuan Warfarin Dosis 0,8 mg/20 g BB dan Vitamin A 7,8 UI/20g BB masa organogenesis dan E). Induk perlakuan Warfarin Dosis 0,8mg/20 g BB dan Vitamin A 7,8 UI/20g BB sebelum organogenesis dimana ; 1. Vena sentralis; 2. Sel endotelium; 3. Nukleus; 4. Sirosis

3.2 Pembahasan

Pada penelitian ini warfarin diberikan pada masa organogenesis yaitu pada hari ke-6 kehamilan. Masa organogenesis dari mencit berada pada hari ke-6 sampai hari ke-15 kehamilan. Dimana, pada masa ini mencit sangat rentan terhadap senyawa teratogen dan senyawa lain yang dapat menimbulkan kerusakan pada jaringan. Sedangkan pada hari ke-1 sampai hari ke-5 kehamilan terdapat sifat totipotensi pada janin yang dapat memperbaiki jaringan yang rusak. Pada hari ke-16 dan seterusnya, senyawa teratogen tidak menimbulkan cacat morfologis, tapi mengakibatkan kelainan fungsional yang tidak dapat dideteksi segera setelah kelahiran (Citrin and Koren, 2009).

Pengamatan terhadap jumlah fetus pada kelompok kontrol, kelompok pemberian warfarin dosis 0,8 mg/20g BB, vitamin A dosis 7,8 UI/20 g BB, kombinasi warfarin dosis 0,8 mg/20g BB dengan vitamin A dosis 7,8 UI/20 g BB yang diberikan selama dan sebelum masa organogenesis menghasilkan jumlah fetus berturut-turut adalah 44; 10; 44; 36; ,dan 20. Pada pemberian warfarin saja terlihat penurunan jumlah fetus dibandingkan dengan kelompok perlakuan lain. Berdasarkan perhitungan statistik, pemberian vitamin A mempengaruhi jumlah fetus mencit secara bermakna ($p < 0,01$). Jumlah fetus pada kelompok pemberian warfarin dan vitamin A sebelum masa organogenesis lebih sedikit dibandingkan kombinasi warfarin dan vitamin A selama masa organogenesis. Jika dibandingkan dengan pemberian vitamin C dan E dapat disimpulkan bahwa kombinasi pemberian warfarin dan vitamin E selama masa organogenesis lebih baik dari penggunaan vitamin A dan C karena lebih banyak menghasilkan fetus.

Pengamatan terhadap berat badan fetus menunjukkan bahwa pemberian vitamin A mempengaruhi berat badan fetus secara bermakna ($p < 0,05$). Dan setelah dilakukan uji lanjut dengan program Statistix 8.0, diketahui kelompok yang berbeda nyata itu terlihat pada kelompok yang diberikan warfarin dosis 0,8 mg/20g BB mencit. Rata-rata berat badan fetus dari kelompok pemberian warfarin saja dengan dosis 0,8 mg/20 g BB mencit lebih kecil dibandingkan dengan kelompok uji lainnya.

Dari hasil pengamatan, kelainan morfologi ditemukan pada pemberian warfarin dosis 0,8 mg/20 g BB mencit berupa 1 fetus lambat pertumbuhan dan 2 fetus yang mati. Hal ini dapat terjadi karena warfarin dapat melewati plasenta sehingga bisa tertimbun dan terakumulasi pada organ fetus sehingga mengakibatkan kelainan perkembangan pada fetus. Pada kelompok pemberian warfarin saja menghasilkan lebih banyak tapak resorpsi dibandingkan dengan kelompok perlakuan lain. Jumlah tapak resorpsi yang dijumpai pada kelompok pemberian warfarin saja, kelompok kontrol negatif, pemberian vitamin A saja, kombinasi pemberian warfarin dan vitamin A selama dan sebelum masa organogenesis berturut-turut adalah 23, 1, 3, 4, dan 14. Adanya tapak resorpsi (gumpalan merah yang tertanam pada uterus) disebabkan karena pengaruh warfarin pada masa organogenesis, dimana tidak terdapat lagi sifat totipotensi sel sehingga tidak dapat memperbaiki kerusakan yang terjadi dan tidak terjadi perkembangan selanjutnya. Akibatnya fetus mencit mati dan hanya terbentuk gumpalan merah. Kerentanan terhadap agen teratogenik tergantung pada stadium perkembangan organ pada waktu terpapar dan ini juga mempengaruhi jenis cacat.

Selain itu, juga terdapat 1 ekor induk mencit yang mengalami abortus pada kelompok pemberian warfarin saja dan kelompok kombinasi warfarin dengan vitamin A yang diberikan sebelum masa organogenesis. Abortus terjadi pada hari ketiga setelah pemberian warfarin. Hal ini mungkin karena efek dari warfarin baru tercapai setelah 12-24 jam dan lama efeknya adalah 2-5 hari (Ganiswara, 1995). Pada kelompok pemberian warfarin dan kelompok kombinasi pemberian warfarin dan vitamin A yang diberikan selama masa organogenesis ditemukan satu fetus yang mengalami pendarahan pada bagian kepalanya. Pendarahan mungkin dapat disebabkan karena warfarin memiliki berat molekul kecil, yaitu 308,33 g/mol (Farmakope Indonesia, 1995) sehingga dapat melewati plasenta dan kerjanya sebagai antikoagulan dapat mempengaruhi fetus (Sathienkijkanchai and Wasant, 2005).

Persentase kerusakan vena sentralis pada hati fetus mencit dari kelompok pemberian warfarin, kelompok pemberian vitamin A, kelompok kombinasi warfarin dan vitamin A yang diberikan selama dan sebelum masa organogenesis berturut-turut adalah 67,64%; 21,96%; 51,68% dan 56,70%. Kerusakan ini dapat terjadi karena warfarin dapat melewati plasenta, sedangkan pada hati fetus belum terdapat enzim yang bisa memetabolisme zat-zat toksik sehingga terakumulasi pada hati fetus.

Kerusakan hati pada kelompok pemberian warfarin saja dengan dosis 0,8 mg/20 g BB pada hari ke-6 kehamilan tidak hanya berupa lisis pada sel endotelium, tetapi juga dijumpai

tingkat kerusakan yang lebih parah yaitu terjadinya sirosis (Gambar 2B). Kerusakan ini disebabkan karena sel membengkak dan mengakibatkan membran sel pecah. Dimana, kerusakan ini bersifat irreversibel sehingga kerusakan yang ditimbulkan tidak hanya pada membran sel saja, tapi juga dapat menyebar ke nukleus dan menyebabkan terjadinya sirosis.

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa vitamin A memiliki potensi dalam mengurangi stress oksidatif pada induk mencit dan fetus. Hal ini dapat dilihat dari persentase peningkatan berat badan induk, jumlah dan berat badan fetus, serta persentase kerusakan hati fetus mencit yang disebabkan oleh pemberian warfarin pada induk mencit. Akan tetapi, pada kelompok kombinasi pemberian warfarin dan vitamin A sebelum masa organogenesis terdapat 1 ekor induk mencit yang mengalami abortus dan pada kelompok kombinasi pemberian warfarin dan vitamin A selama masa organogenesis juga terdapat 1 ekor fetus yang mengalami pendarahan pada bagian kepalanya seperti yang dijumpai pada kelompok pemberian warfarin saja. Oleh karena itu, masih belum dapat disimpulkan bahwa vitamin A dapat memperbaiki efek yang ditimbulkan oleh warfarin pada induk dan fetus mencit secara keseluruhan.

IV. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Pemberian warfarin dapat menyebabkan abortus, pendarahan pada fetus, tapak resorpsi yang banyak, fetus mati saat laparaktomi dan fetus lambat pertumbuhan serta kerusakan pada hati fetus mencit.
2. Vitamin A dapat mengurangi efek yang merugikan dari warfarin pada induk dan fetus mencit.
3. Pemberian vitamin A selama masa organogenesis memiliki aktivitas yang lebih baik dalam mengurangi kerusakan yang ditimbulkan oleh warfarin dibandingkan dengan pemberian vitamin A sebelum masa organogenesis.

DAFTAR PUSTAKA

- Afonso, V., Champy, R. (2007). Reactive Oxygen Species and Superoxide Dismutases: Role in Joint Diseases. *Sciencedirect*, 74, 324-329.
- Agarwal, A., S. Gupta and R. K. Sharma. (2005). Role of oxidative stress in female reproduction. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 3 (28).
- Allen R. G, Tressini M. (2000). Oxidative Stress and Gene Regulation. *Free Radical Biol Med*, 28, 463-499.
- Almahdy, A., Helmi, A., Vivi D. (2007). Pengaruh Pemberian Vitamin C terhadap Fetus pada Mencit Diabetes. *Jurnal Science dan Teknologi Farmasi*, 12(1), 32-40.
- BPOM RI. (2005). *Mengenal Beberapa Senyawa pada Tanaman yang Berperan sebagai Antiaging*, 6 (3), 7-12.
- Baillie, M., Allen, D and Elkington, A. R. (1980). The Congenital Warfarin Syndrome : A Case Report. *British Jurnal of Ophthalmology*, 64, 633-635.
- Citrin, O.D., Koren, G. (2009). *Human Teratogens: a Critical Evaluation*. Canada: The Motherisk Program, the Hospital for Sick Children.
- Drake V. J. (2007). *Micronutrient Research for Optimum Health*. Oregon State University.
- Farmakope Indonesia (Edisi IV). (1995). Jakarta. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Ganiswara, S. G. (1995). *Farmakologi dan Terapi* (Edisi IV). Jakarta: Gaya Baru.

- Mason, J. D. T., Jardine, A., Gibbin, K. P. (1992). Foetal Warfarin Syndrome - Complex Airway Problem. *The Journal of Laryngology & Otology*, 106, 1098-1099.
- Murray, R. K., Granner, D. K and Mayes, P. A. (1997). *Biokimia Harper* (Edisi 24). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Sathienkijkanhai, A., and P. Wasant. (2005). Fetal Warfarin Syndrome. *J Med Assoc Thai*, 88 (8), 246-250.
- Scheinin, S., Wells, P and Nguyen, J. (2003). Purple-Toe Syndrome: A Complication of Warfarin Therapy. *The Journal of Family Practice*, 59 (10).
- Sunarni, T. (2005). Aktivitas Antioksidan Penangkap Radikal Bebas Beberapa kecambah Dari Biji Tanaman Familia Papilionaceae, *Jurnal Farmasi Indonesia*, 2 (2), 53-61.
- Wells, Barbara G., Joseph T. Dipiro, Terry L. Schwinghammer, Cindi W. Hamilton. (2006). *Pharmacoteraphy Handbook Sixth Edition*, Mc Graw Hill.

Lampiran 1.

Tabel 3. Pengamatan fetus secara makroskopis

No	Pengamatan	Kelompok Uji																									
		P1					P2					P3					P4					P5					
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	
1	Kaki	n	n	n	n	n	n	n	-	-	*	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	*	n	n
2	Jari-jari	n	n	n	n	n	n	n	-	-	*	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	*	n	n
3	Rangka	n	n	n	n	n	n	n	-	-	*	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	*	n	n
4	Ekor	n	n	n	n	n	n	n	-	-	*	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	*	n	n
5	Telinga	n	n	n	n	n	n	n	-	-	*	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	*	n	n
6	Langit-langit	n	n	n	n	n	n	n	-	-	*	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	*	n	n
7	Kelopak mata	n	n	n	n	n	n	n	-	-	*	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	*	n	n
8	Tapak resorpsi	-	-	-	+1	-	-	+4	+9	+10	*	-	+2	-	+1	-	-	+1	+3	-	-	+5	+3	-	+6	-	-
9	Mati saat laparaktomi	-	-	-	-	-	+2	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
10	Lambat pertumbuhan	-	-	-	-	-	+1	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
11	Keguguran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	
12	pendarahan	-	-	-	-	-	-	+1	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	+1	-	-	-	-	-	-	-	

*Induk mati pada hari ke-9 kehamilan

P1 = Kelompok kontrol

P2 = Kelompok pemberian warfarin dosis 0,8 mg/20 g BB mencit pada hari ke-6 kehamilan

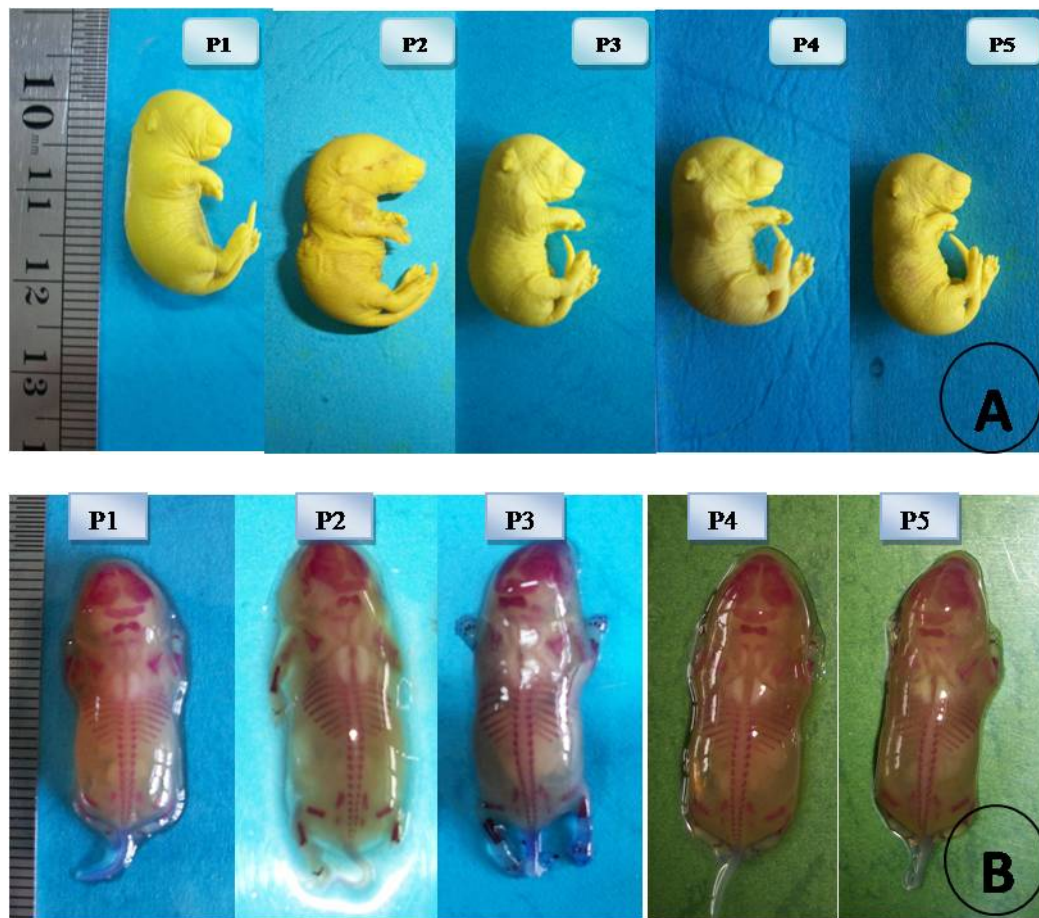
P3 = Kelompok pemberian vitamin A 7,8 UI/20 g BB mencit setiap dua hari pada hari ke-0 sampai ke-15 kehamilan

P4 = Kelompok pemberian warfarin dosis 0,8 mg/20 g BB dan vitamin A 7,8 UI/20g BB mencit selama masa organogenesis

P5 = Kelompok pemberian warfarin dosis 0,8 mg/20 g BB dan vitamin A 7,8 UI/20g BB mencit sebelum masa organogenesis

n = Normal, - = tidak ada, +1, +2 = menunjukkan jumlah

Lampiran 2.



Gambar 3. Foto makroskopis pengamatan fetus mencit A. dengan larutan bouin's dan B. dengan larutan merah alizarin dimana P1. kontrol, P2. Warfarin Dosis 0,8mg/20 g BB, P3). Vitamin A 7,8 UI/20 g BB, P4). Warfarin Dosis 0,8 mg/20 g BB dan Vitamin A 7,8 UI/20g BB masa organogenesis dan P5). Warfarin Dosis 0,8mg/20 g BB dan Vitamin A 7,8 UI/20g BB sebelum organogenesis